

10/507313

Rec'd PCT/PTO 10 S 2004  
日本国特許庁 PCT/JP03/02962  
JAPAN PATENT OFFICE

12.03.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 3月13日

出願番号

Application Number:

特願2002-068832

[ST.10/C]:

[JP2002-068832]

出願人

Applicant(s):

松下電器産業株式会社

REC'D 09 MAY 2003

WIPO

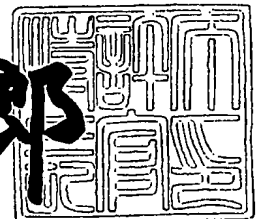
PCT

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 4月22日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3028866

【書類名】 特許願

【整理番号】 2033740012

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 33/493

【発明者】

    【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器産業株式  
                                会社内

    【氏名】 河村 達朗

【発明者】

    【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器産業株式  
                                会社内

    【氏名】 亀井 明仁

【特許出願人】

    【識別番号】 000005821

    【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社

【代理人】

    【識別番号】 100072431

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 石井 和郎

【選任した代理人】

    【識別番号】 100117972

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 河崎 眞一

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 066936

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0114078

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 均一化・反応完了判定方法、およびこれを用いた溶液濃度計測方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (1) 被検液および試薬液を混合して混合液を得る工程、(2) 混合後の前記混合液の光学特性を、離散的に複数回または連続的に計測する工程、(3) 得られた光学特性の計測値と混合後計測開始以降の経過時間との関係を求める工程、ならびに(4) 前記関係に基づき、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合されたことおよび／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したことを判定する工程を含むことを特徴とする均一化・反応完了判定方法。

【請求項2】 前記工程(3)が、 $dS1/dt$  (但し、 $S1$ は得られた光学特性の計測値、 $T$ は混合後計測開始以降の経過時間)を求める工程であり、

前記工程(4)が、 $dS1/dt$ が所定範囲 $R1$ 内にある状態が連続的に所定時間 $T1$ 以上継続した場合に、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合されたことおよび／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したことを判定する工程である請求項1記載の均一化・反応完了判定方法。

【請求項3】 前記工程(3)が、 $(dS1/dt)/S1$  (但し、 $S1$ は得られた光学特性の計測値、 $T$ は混合後計測開始以降の経過時間)を求める工程であり、

前記工程(4)が、 $(dS1/dt)/S1$ が所定範囲 $R2$ 内にある状態が連続的に所定時間 $T2$ 以上継続した場合に、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合され、および／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したと判定する工程である請求項1記載の均一化・反応完了判定方法。

【請求項4】 (1) 被検液および試薬液を混合して混合液を得る工程、(2) 前記被検液および前記混合液の光学特性を連続的に計測するか、または前記被検液の光学特性を少なくとも1回計測しかつ混合後の前記混合液の光学特性を離散的に複数回計測する工程、(3) 得られた光学特性の計測値と混合後計測開始以降の経過時間との関係を求める工程、ならびに(4) 前記関係に基づき、前

記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合されたことおよび／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したことを判定する工程を含むことを特徴とする均一化・反応完了判定方法。

【請求項5】 前記工程(3)が、 $(dS1/dt)/(S1-S0)$ （但し、 $S0$ は前記被検液の光学特性の計測値、 $S1$ は前記混合液の光学特性の計測値、 $T$ は混合後計測開始以降の経過時間）を求める工程であり、

前記工程(4)が、 $(dS1/dt)/S1$ が所定範囲 $R3$ 内にある状態が連続的に所定時間 $T3$ 以上継続した場合に、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合され、および／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したと判定する工程である請求項4記載の均一化・反応完了判定方法。

【請求項6】 請求項1～5に記載の均一化・反応完了判定方法によって、前記被検液と前記試薬液との混合の均一化および／または反応の実質的な完了を判定した後、計測値 $S1$ 、または計測値 $S0$ および $S1$ に基づいて前記被検液中の特定成分の濃度を決定することを特徴とする溶液濃度計測方法。

【請求項7】 前記被検液と前記試薬液との混合の均一化および／または反応の実質的な完了を判定した後、さらに別の試薬液を前記被検液に混合する工程を含むことを特徴とする請求項6記載の溶液濃度計測方法。

【請求項8】 前記被検液と前記試薬液との混合の均一化および／または反応の実質的な完了を判定した後、所定時間 $T4$ が経過した時点でさらに別の試薬液を前記被検液に混合し、かつ所定時間 $T4$ が経過する以前に前記混合液の光学特性を計測することを特徴とする請求項7記載の溶液濃度計測方法。

【請求項9】 被検液に光を照射する光源と、前記被検液を保持するサンプルセルと、前記被検液を透過した光を検出する光センサ1および／または前記被検液中を前記光が伝搬する際に発生した散乱光を検出する光センサ2と、前記光センサ1および／または前記光センサ2の出力信号を解析するコンピューターとを備え、

前記コンピューターが、請求項6～8のいずれかに記載の溶液濃度計測方法に基づき、前記光センサ1および／または前記光センサ2の出力信号を解析して、前記被検液の濃度を算出することを特徴とする溶液濃度計測装置。

【請求項 1 0】 被検液に光を照射する光源と、前記被検液を保持するサンプルセルと、前記被検液を透過した光を検出する光センサ 1 および／または前記被検液中を前記光が伝搬する際に発生した散乱光を検出する光センサ 2 と、前記サンプルセル中の前記被検液に試薬液を注入することで混合する注入機と、前記光センサ 1 および／または前記光センサ 2 の出力信号を解析し、前記注入機を制御するコンピューターとを備え、

前記コンピューターが、請求項 6 ～ 8 のいずれかに記載の溶液濃度計測方法に基づき、前記光センサ 1 および／または前記光センサ 2 の出力信号を解析して、前記注入機を制御するとともに、前記被検液の濃度を算出することを特徴とする溶液濃度計測装置。

【請求項 1 1】 前記光源を用いて、前記被検液の光学特性を計測して被検液中の特定物質の濃度を計測することを特徴とする請求項 1 0 記載の溶液濃度計測装置。

【請求項 1 2】 計測開始以降所定時間 T 以内に均一化および／または反応完了が判定されなかった場合、当該計測を無効とすることを特徴とする請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の均一化・反応完了判定方法。

【請求項 1 3】 計測開始以降所定時間 T 以内に均一化および／または反応完了が判定されなかった場合、当該計測を無効とすることを特徴とする請求項 6 ～ 8 のいずれかに記載の溶液濃度計測方法。

【請求項 1 4】 計測開始以降所定時間 T 以内に均一化および／または反応完了が判定されなかった場合、当該計測を無効とすることを特徴とする請求項 9 ～ 1 1 のいずれかに記載の溶液濃度計測装置。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【発明の属する技術分野】

本発明は、被検液中に溶解している溶質、例えばタンパク質の濃度を計測する溶液濃度計測方法および溶液濃度計測装置に関する。より具体的には、本発明は、特定成分を含む被検液に試薬液を混合させ、特定成分のみに起因する前記被検液の光学特性を変化させることによって、この特定成分の濃度を計測するもので

ある。特に、被検液と試薬液を混合してタンパク質成分を凝集させることで、このタンパク質成分の濃度を、注入後の被検液を透過する光の減少および／または被検液中を伝搬する際に発生した散乱光強度の増加を検出することで、計測するものである。

#### 【0002】

本発明は、被検液と試薬液とが、均一になるまで十分攪拌されていることを、混合液の透過光強度や散乱光強度と混合後の経過時間との関係が所定条件満足したことで判定する。また、これにより、被検液と試薬液との反応が完了したことも同時に判定することができる。このように、均一化や反応完了を判定することで、計測時間を必要十分に設定することができ、計測時間を短縮することができる。特に、被検液と試薬液の混合液の温度を制御しない場合において、必要十分な計測時間で高信頼性を実現でき、実用性の高い溶液濃度計測方法が得られる。

#### 【0003】

##### 【従来の技術】

従来の溶液濃度計測方法においては、被検液と試薬液とを所定容量比で混合し、均一化するまで十分攪拌することによって混合液を調製していた。そして、所定温度で、この混合液を混合した後、所定時間経過した時点で、当該混合液の光学特性を計測することで、濃度を決定していた。ここで、酵素反応および抗原抗体反応などの生化学反応を利用して、特定成分の濃度を計測する方法においては、所定温度を生体温度付近である37℃に設定することが多かった。そして、所定時間を、反応が十分完了する時間に設定することが多かった。当然、反応速度は温度および濃度などに依存するため、所定温度において被検試料が示す濃度に対して、反応が完了するのに十分な時間を設定していた。

このように、従来は、均一化するまで十分攪拌し、確実に反応が十分完了する条件で、光学特性を計測していた。すなわち、均一化と反応完了に対して十分な条件を設定していた。

#### 【0004】

また、従来の溶液濃度計測装置においては、被検液中を光が伝搬する構成のサンプルセルに被検液を保持していた。このサンプルセルは、ガラス等の直方体で

、透過面は透明になっている。このため、被検試料中を光が伝搬することができ、サンプルセルに被検液および試薬液を導入および混合する際は、サンプルセルを光学特性計測用の光学系から取り外し、次のように操作していた。

通常、このサンプルセルの上部は開放されており、この上部から、スポイト、ピペットまたはシリンジなどで所定容量の被検液を導入する。次に、所定容量の試薬液を混合し、被検液と試薬の容量比を一定にしていた。そして、サンプルセル中で攪拌棒またはスターラーなどで、十分に均一になるまで攪拌し、サンプルセルごと恒温水槽などで所定温度に維持し、ついで所定時間経過後に、サンプルセルを光学系に再設置し、サンプルセル中の混合液の光学特性を計測していた。

#### 【0005】

##### 【発明が解決しようとする課題】

しかし、従来の溶液濃度計測方法は工程数が多く、従来の溶液濃度計測装置の規模が大きくなるという問題があった。さらに、計測時間も増大するという問題があった。このため、恒温水槽などを用いず、簡単な構成を有する溶液濃度計測装置、および自動化が容易な溶液濃度計測方法が望まれている。

また、サンプルセルを出し入れする工程を経ることで、光学系の位置が微妙に変化し、測定結果に誤差が生じやすくなるという問題もあった。さらに、複雑な操作を要することから、誤操作なども発生し易く、信頼性に劣るという問題もあった。

本発明は、上記の問題点を考慮し、信頼性が高く、自動化が容易な溶液濃度計測方法、および信頼性が高く、自動化が容易で小型の溶液濃度計測装置を提供することを目的とする。さらに、本発明は、均一化や反応完了までに必要な時間を必要最小限度にし、計測時間を短縮することのできる溶液濃度計測方法および溶液濃度計測装置を提供する。

#### 【0006】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明は、（１）被検液および試薬液を混合して混合液を得る工程、（２）混合後の前記混合液の光学特性を、離散的に複数回または連続的に計測する工程、（３）得られた光学特性の計測値と混合後計測開始以降の経過時間との関係を求



める工程、ならびに（４）前記関係に基づき、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合されたことおよび／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したことを判定する工程を含むことを特徴とする均一化・反応完了判定方法に関する。工程（１）～（４）はこの順に行う。

## 【0007】

この均一化・反応完了方法においては、前記工程（３）が、 $dS1/dt$ （但し、 $S1$ は得られた光学特性の計測値、 $T$ は混合後計測開始以降の経過時間）を求める工程であり、前記工程（４）が、 $dS1/dt$ が所定範囲 $R1$ 内にある状態が連続的に所定時間 $T1$ 以上継続した場合に、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合されたことおよび／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したことを判定する工程であるのが好ましい。

## 【0008】

また、前記工程（３）が、 $(dS1/dt)/S1$ （但し、 $S1$ は得られた光学特性の計測値、 $T$ は混合後計測開始以降の経過時間）を求める工程であり、前記工程（４）が、 $(dS1/dt)/S1$ が所定範囲 $R2$ 内にある状態が連続的に所定時間 $T2$ 以上継続した場合に、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合され、および／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したと判定する工程であるのが好ましい。

## 【0009】

また、本発明は、（１）被検液および試薬液を混合して混合液を得る工程、（２）前記被検液および前記混合液の光学特性を連続的に計測するか、または前記被検液の光学特性を少なくとも１回計測しかつ混合後の前記混合液の光学特性を離散的に複数回計測する工程、（３）得られた光学特性の計測値と混合後計測開始以降の経過時間との関係を求める工程、ならびに（４）前記関係に基づき、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合されたことおよび／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したことを判定する工程を含むことを特徴とする均一化・反応完了判定方法に関する。工程（１）～（４）はこの順に行う。

## 【0010】

この均一化・反応完了方法においては、前記工程（３）が、 $(dS1/dt) / (S1 - S0)$ （但し、 $S0$ は前記被検液の光学特性の計測値、 $S1$ は前記混合液の光学特性の計測値、 $T$ は混合後計測開始以降の経過時間）を求める工程であり、前記工程（４）が、 $(dS1/dt) / S1$ が所定範囲 $R3$ 内にある状態が連続的に所定時間 $T3$ 以上継続した場合に、前記被検液と前記試薬液とが実質的に均一に混合され、および／または前記被検液と前記試薬液との反応が実質的に完了したと判定する工程であるのが好ましい。

## 【0011】

さらに、本発明は、上記均一化・反応完了判定方法によって、前記被検液と前記試薬液との混合の均一化および／または反応の実質的な完了を判定した後、計測値 $S1$ 、または計測値 $S0$ および $S1$ に基づいて前記被検液中の特定成分の濃度を決定することを特徴とする溶液濃度計測方法に関する。

この溶液濃度計測方法は、前記被検液と前記試薬液との混合の均一化および／または反応の実質的な完了を判定した後、さらに別の試薬液を前記被検液に混合する工程を含むのが好ましい。

この場合、前記被検液と前記試薬液との混合の均一化および／または反応の実質的な完了を判定した後、所定時間 $T4$ が経過した時点でさらに別の試薬液を前記被検液に混合し、かつ所定時間 $T4$ が経過する以前に前記混合液の光学特性を計測するのが好ましい。

## 【0012】

また、本発明は、被検液に光を照射する光源と、前記被検液を保持するサンプルセルと、前記被検液を透過した光を検出する光センサ１および／または前記被検液中を前記光が伝搬する際に発生した散乱光を検出する光センサ２と、前記光センサ１および／または前記光センサ２の出力信号を解析するコンピューターとを備え、前記コンピューターが、上記溶液濃度計測方法に基づき、前記光センサ１および／または前記光センサ２の出力信号を解析して、前記被検液の濃度を算出することを特徴とする溶液濃度計測装置にも関する。

## 【0013】

さらに本発明は、被検液に光を照射する光源と、前記被検液を保持するサンプ

ルセルと、前記被検液を透過した光を検出する光センサ1および／または前記被検液中を前記光が伝搬する際に発生した散乱光を検出する光センサ2と、前記サンプルセル中の前記被検液に試薬液を注入することで混合する注入機と、前記光センサ1および／または前記光センサ2の出力信号を解析し、前記注入機を制御するコンピューターとを備え、前記コンピューターが、上記溶液濃度計測方法に基づき、前記光センサ1および／または前記光センサ2の出力信号を解析して、前記注入機を制御するとともに、前記被検液の濃度を算出することを特徴とする溶液濃度計測装置に関する。

#### 【0014】

この溶液濃度計測装置においては、前記光源を用いて、前記被検液の光学特性を計測して被検液中の特定物質の濃度を計測するのが好ましい。

また、試薬液を注入することによる発生した力学的な効果で攪拌するのが好ましい。

さらに、上記均一化・反応完了判定方法、溶液濃度計測方法および溶液濃度計測装置においては、計測開始以降所定時間T以内に均一化および／または反応完了が判定されなかった場合、当該計測を無効とするのが好ましい。

#### 【0015】

##### 【発明の実施の形態】

##### 実施の形態1

本発明の実施の形態1について、図1および2を用いて以下に詳細に説明する。図1は、本発明の実施の形態1に係る溶液濃度計測装置の上面図であり、図2は本発明の実施の形態1に係る溶液濃度計測装置の一部を断面にした側面図である。図1および2において、サンプルセル1の骨格部分は、上部に開放された開口部を有する直方体状のアルミ製の容器で構成される。サンプルセル1の一对の側面には光学窓であるガラス板がはめ込まれて光路が形成され、サンプルセル1中に保持された被検液（または被検液と試薬液の混合液）中を光が透過することができる。このサンプルセル1内の光の伝搬方向の距離である光学窓間の距離（光路長）は、図1においてAで示し、サンプルセル1内の光の伝搬方向に対して垂直な方向の距離をBで示す。本実施の形態は、Aは0.8cmで、Bが0.4

cmの場合に代表させて本発明を説明する。

【0016】

図1に示すように、サンプルセル1の光学窓がない側面の端部には注入口2が配置され、注入口2の内径（直径）は0.1cmである。図2に示すように、この注入口2の断面の中心は、サンプルセル1の底面から距離x、光学窓から距離zに位置している。注入方向10は、光学窓の面に平行で、光の伝搬方向に垂直である。本実施の形態では、xが0.4cm、zが0.1cmの場合に代表させて本発明を説明する。

光源である半導体レーザーモジュール3は、示す波長780nm、強度3.0mW、ビーム直径0.2cmの略平行光4をサンプルセル1内の被検液に投射する。この略平行光4の光軸はサンプルセル1の底面と平行で、底面から距離0.4cmに位置している。したがって、光軸と注入口2は、底面から同じ高さに位置し、注入口2の断面の中心から注入方向10へ伸びる注入軸と略平行光4の光軸とが、前記サンプルセル1内の溶液中で交点を有する。

【0017】

光センサ5は、被検液を透過した光を検知する光センサである。ポンプ6は、試薬液を注入口2より、サンプルセル1中の被検液に注入する。また、コンピューター7は、光センサ5の出力信号を解析し、ポンプ6を制御する。なお、矢印8は、注入口2から試薬液が注入された時にサンプルセル1内で発生する渦の向きを模式的に示している。また、被検液の液面9の最下部がサンプルセル1の底面より高さhに位置する。なお、本発明においては、液面9の最下部に接する面であって、水平面に平行な面を液面と定義する。この定義に基づき、本実施の形態では、注入方向は液面に対して平行である。

このサンプルセル1においては、内壁の角にrを持たせている。すなわち、サンプルセル1内の角が厳密には直角ではない。そのため、 $h = 0.8\text{ cm}$ のとき、サンプルセル1内には約0.25mlの被検液が保持される。

【0018】

本実施の形態では、被検液として平均直径が20nmのポリスチレン微粒子を純水中に均一に分散して得られる分散液をサンプルセル1内に充填する。この被

検液は全体的に均一に混濁している。

まず、この被検液に純水を注入する場合のメカニズムを説明する。このポリスチレン微粒子は、比重が純水と近く、粒径も小さいため、本発明に係る方法を実施する時間においては、一旦十分に純水中に均一に分散されると、分離および沈殿などの現象は起こらない。しかし、攪拌が不十分で均一に分散されなかった場合は、これらの現象が起こり得る。

#### 【0019】

この被検液に純水を注入すると、ポリスチレン微粒子が全体に拡散し、ポリスチレン微粒子濃度が低下する。そして、被検液全体の混濁度合い、すなわち濁度が低下する。この濁度を透過光強度として光センサ5の出力信号で計測する。

このように、微粒子を含んだ液の拡散による混濁の変化は、化学反応が伴わない。したがって、被検液全体の濁度は、ポリスチレン微粒子の拡散度合いのみに依存し、反応速度を勘案する必要がない。すなわち、濁度がある値で安定したことは、微粒子が液全体に十分に広がり、均一に分散されたこと意味する。

これらのことから、微粒子を含んだ液を試薬液として被検液に混合して濁度を観測すると、攪拌効果を検証する場合に便利である。

#### 【0020】

本実施の形態の動作をつぎのように行った。

まず、前記ポリスチレン微粒子を含んだ被検液をサンプルセル1へ導入した。このとき、導入する被検液の容量は0.25mlであった。コンピューター7に、光センサ5の出力信号の計測（記録）を開始させた。導入後計測開始以降の、光センサ5の出力信号の時間変化を図3に示した。

図3においては、出力信号の計測開始後の経過時間を横軸に示し、光センサ5の出力信号を縦軸に示した。10秒経過した時点で、コンピューター7がポンプ6を制御して、純水を注入口2より2秒間で注入させた。このように純水を注入した場合における光センサ5の出力信号の変化を、図3の実線で表した。図3において、aは0.1mlの純水、bは0.07mlの純水、cは0.05mlの純水、dは0.03mlの純水を注入した場合における光センサ5の出力信号の変化を示した。

## 【 0 0 2 1 】

この図で、純水の注入を開始する時点、すなわち記録開始後 1 0 秒経過時点から、2 ～ 3 秒間は、注入された純水の流束そのものが略平行光 4 の光路に侵入した。そのため、透過光の強度および伝搬方向が乱れ、光センサ 5 の出力信号が激しく変化した。図 3 において、この変化の振幅はハッチングした領域で示され、出力信号は 0 . 6 ～ 1 . 4 V の間で変化した。注入する純水の体積が同一であっても、変化の履歴は再現しなかったが、変化の振幅はこの領域で示された。純水の注入量に応じてポリスチレン粒子の濃度が低下するので、濁度も注入量に応じて低下した。

## 【 0 0 2 2 】

純水の注入量が 0 . 1 m l、0 . 0 7 m l および 0 . 0 5 m l の場合は、それぞれ図 3 の実線 a、b および c で示されるように、各注入量に応じた出力信号を示し、出力信号そのものも安定した。これは、純水を注入したことによって、被検液内に渦が発生し、被検液および純水の混合液を十分に均一になるまで攪拌できたからであり、目視でも均一化を確認することができた。一方、注入量が 0 . 0 3 m l の場合は、図 3 の実線 d に示されるように、出力信号が安定しなかった。これは、被検液および純水の混合液の攪拌が不十分で、均一になるまで攪拌されなかったからであり、ポリスチレン微粒子の濃度むらが目視でも確認できた。

このように、実線 a ～ c で、被検液および純水の混合液が十分均一になるまで攪拌された場合を示し、実線 d で前記混合液が均一になるまで攪拌できなかった場合を示した。

## 【 0 0 2 3 】

ここで、光センサ 5 の出力信号より被検液の濁度などの光学特性を計測する場合は、従来から光センサ 5 の出力信号が十分安定すると考えられる時間が経過するのを待ち、その時間経過後に光センサ 5 の出力信号を解析していた。例えば、記録開始後 6 0 秒経過時点の光センサ 5 の出力信号を用いていた。しかし、本発明において実線 d に示した場合は、混合液が均一化していないため、正確な光学特性を計測することができなかった。したがって、別途目視などで均一化を確認する必要があった。

## 【 0 0 2 4 】

このような従来の技術に対し、混合液が十分に攪拌されたかどうか、すなわち混合液が均一になったかどうかを、混合液の光学特性、すなわち光センサ 5 の出力信号に基づいて判定する本発明の方法を以下に説明する。この方法は、簡単に言うと、計測開始から結果がでるまでの待機時間を必要十分に設定することで、計測時間を短縮できる例でもある。

まず、計測を実施する最長時間をあらかじめ設定しておく。これは、計測を開始してから、結果がでるまでの最長待機時間に相当し、この最長時間を超えた場合の計測を無効とする。このあらかじめ設定しておく時間を所定時間  $T$  とする。

## 【 0 0 2 5 】

この方法においては、所定時間  $T$  以内に、光センサ 5 の出力信号  $S 1$  の単位時間当たりの変化量、すなわち微分信号  $d S 1 / d t$  が所定範囲  $R 1$  内にある状態が連続して所定時間  $T 1$  経過することで均一化になったと判定する。

具体的に、計測開始後所定時間  $T$  (60 秒) 以内に  $d S 1 / d t$  [ $V / S$ ] が式 (1) :

$$-5 \times 10^{-4} \leq d S 1 / d t \leq 5 \times 10^{-4} \quad (1)$$

で示される所定範囲  $R 1$  内にある状態が、連続して所定時間  $T 1$  (1.5 秒) 以上経過した時点で、混合液が均一化したと判定する。なお、この最長待機時間に相当する所定時間  $T$  を的確に設定しないと、攪拌が不十分で均一化されておらず、特に純水領域と微粒子液領域とが分離している場合などでも、微分信号  $d S 1 / d t$  が所定範囲  $R 1$  内において所定時間  $T 1$  経過し、混合液が均一化したと誤判定する可能性がある。

## 【 0 0 2 6 】

図 4 に、光センサ 5 の出力信号の微分信号を示す。図 4 の実線  $a \sim d$  は、それぞれ図 3 の実線  $a \sim c$  および破線  $d$  で示される信号強度の微分値 ( $d S / d t$ ) に相当する。図 4 においても、図 3 と同様に、純水の注入を開始する 10 秒経過時点から約 2 秒間以上の期間は、注入された純水の流束そのものが略平行光 4 の光路に侵入したため、透過光の強度および伝搬方向が乱れ、光センサ 5 の出力信号の微分信号は激しく変化した。図 4 では、実線  $a \sim c$  は重なって見えた。ここ

で、図4の縦軸を0付近で拡大した図を作成した(図5)。図5より、実線a～cはゼロに漸近し、破線dは一旦マイナス側に大きく振れて極小値を取ることがわかった。しかし、図5においても、実線a～cは重なって見えた。

そこで、図6に、図4において縦軸のゼロ以上の部分を拡大し、横軸の14.5～16.5秒の部分拡大したグラフを示した。図6において、▲はaに対応し、■はbに対応し、●はcに対応する。図6から明らかなように、a～cはゼロに漸近して行った。

【0027】

ここで、上記した均一化判定の条件として、計測開始以降所定時間T(60秒)以内に、光センサ5の出力信号の微分信号 $dS1/dt$ が式(1)で示した所定範囲R1内にある状態が所定時間T1(1.5秒)以上継続した時間を以下のように見出した。

光センサ5の出力信号の微分信号 $dS1/dt$ が $5 \times 10^{-4}$  [V/S] 以下になるのは、aにおいては14.79秒経過以降、bにおいては14.88秒経過以降、cにおいては14.92秒経過以降であった。これら以降はa～cはゼロに漸近して行くため、微分信号は式(1)で示した所定範囲R1内にあった。

したがって、図6において微分信号 $dS/dt$ が式(1)で示した所定範囲R1内に入った時点から1.5秒経過した時点が、計測開始から所定時間(T=60秒)以内であれば、15秒経過した時点で混合液が均一化されたと判定できた。具体的には、aにおいては、16.29秒経過時点で均一化されたと判定でき、bにおいては、16.38秒経過時点で均一化されたと判定でき、cにおいては、16.42秒経過時点で均一化されたと判定できた。

【0028】

一方、図4において、ゼロ付近の縦軸を拡大し、17～20秒経過時点の横軸を拡大した図を作成した(図7)。図7に示すように、光センサ5の出力信号の微分信号 $dS1/dt$ が、式(1)で示した所定範囲R1内にあるのは、17.69秒経過時点から18.71秒経過時点までである。この場合、微分信号がR1以内にある状態は1.02秒(=18.71-17.69)しか継続しなかったため、混合液が均一化したとは判定できなかった。また、図2から明らかなよう



に、少なくとも計測開始以降所定時間（ $T = 60$  秒）経過時点までは、微分信号が範囲  $R1$  に入らないため、 $d$  に係る混合液は均一化しなかったと判定された。このような判定条件を用いることで、混合液が十分に攪拌され均一化されたかどうかを的確に判定することができた。

## 【0029】

ここで、光センサ 5 の出力信号より、被検液の濁度などの光学特性を計測する場合は、上記の様に、均一化されたと判定された時点の、光センサ 5 の出力信号を解析すればよい。すなわち、 $a$  に関しては 16. 29 秒経過時点の光センサ 5 の出力信号を用い、 $b$  に関しては 16. 38 秒経過時点の光センサ 5 の出力信号を用いればよく、 $c$  に関しては 16. 42 秒経過時点の光センサ 5 の出力信号を用いればよい。これにより、精度を確保しつつ必要十分な計測時間で光学特性を計測することができ、計測時間を短縮することができる。さらに、均一化が不十分であることによる誤動作も回避できる。

## 【0030】

均一化の判定条件は、上記条件に限定されるものではないことは言うまでもない。すなわち、 $T$ 、 $T1$ 、および式（1）で示される所定範囲  $R1$  は、微粒子の大きさ、密度、注入速度、光学系の配置、要求される精度、計測時間および検量線などの各種条件に応じて、適宜設定することができる。また、被検液の特定成分濃度を算出する場合は、コンピューター 7 が、均一化が判定された時点の光センサ 5 の出力信号を、あらかじめ設定された検量線を参照して、被検液の濃度を算出する。

以上のように、本実施の形態によれば、混合液の攪拌度合いおよび均一性を、サンプルセルを光学系に設置したまま判定することができる。さらに、計測に要する時間が必要十分なため、時間を節約することができる。これにより、工程を簡略化するとともに誤動作が発生しにくくなり、その実用的効果は極めて大きく、計測および検査の効率化および省力化が可能である。

## 【0031】

## 実施の形態 2

本発明の実施の形態 2 について、図 8 および 9 を用いて以下に詳細に説明する

。図8および9において符号1～10で示される構成要素は、上記実施の形態1を説明するために用いた図1および2において符号1～10で示される構成要素と同じであり、同様に動作する。ただし、本実施の形態においては投射光が被検液ないし混合液内で散乱した光を検出する。

略平行光4が被検液中を伝搬する際に発生した散乱光11が、光センサ12により検知される。光センサ12の出力信号が散乱光11の強度に相当し、コンピュータ7がこれを解析する。

#### 【0032】

本実施の形態では、被検液としてタンパク質を含む溶液を用い、試薬液としてスルホサリチル酸試薬液（硫酸ナトリウムを2-ヒドロキシ-5-スルホ安息香酸水溶液に溶解して得られる試薬）を用いて、被検液中のタンパク質濃度を計測する。この場合、被検液とスルホサリチル酸試薬液が混合されると、被検液中のタンパク質成分が凝集し、得られる混合液全体が混濁する。そのため、この混濁度合い、すなわち濁度を計測することで、タンパク質濃度を決定することができる。ここでは、濁度を散乱光強度として、すなわち光センサ12の出力信号として計測する。タンパク質濃度が高いほど濁度が高いため、光センサ12の出力信号は大きくなる。

#### 【0033】

タンパク質濃度を算出する際は、あらかじめ濃度が既知の標準溶液の濁度、すなわち光センサ12の出力信号を計測しておき、これに基づいて検量線を作成する。そして、濃度未知の被検液の濁度を計測し、作成済みの検量線を参照して、濃度を算出する。

本実施の形態では、上記実施の形態1と異なり、光学特性、すなわち濁度の変化特性には、攪拌効果だけでなく反応（凝集）特性によっても影響されている。

#### 【0034】

本実施の形態の動作をつぎのように行った。

まず、被検液としてタンパク質濃度が100mg/dlの水溶液をサンプルセル1へ導入した。このとき、導入する被検液の容量は0.25mlであった。コンピュータ7に、光センサ12の出力信号の記録を開始させた。導入後記録開

始以降の光センサ12の出力信号の時間変化を図10において●で示した。

図10においては、出力信号の計測開始後の経過時間を横軸に示し、光センサ12の出力信号を縦軸で示した。計測開始後20秒経過した時点で、コンピューター7がポンプ6を制御して、0.05mlのスルホサリチル酸試薬液を注入口2より2秒間で注入させた。

同様に、タンパク質濃度が30mg/dl、10mg/dlまたは0mg/dlの水溶液を0.25mlサンプルセル1へ導入し、0.05mlのスルホサリチル酸試薬液を計測開始後20秒経過した時点で注入した場合の光センサ12の出力信号を、図10においてそれぞれ■、×または○で示した。

#### 【0035】

図10において、●、■、×および○で示された出力信号は、試薬液注入時点付近で、大きく変化するが、これは、注入された試薬液の流束そのものが略平行光4の光路中に侵入したことに起因した。なぜなら、被検液であるタンパク質水溶液と試薬液であるスルホサリチル酸水溶液とは、屈折率が異なるため、局所的な不均一性により散乱光強度が大きく変化するからであった。さらに、注入にともない泡などの微粒子が光路中に侵入することによっても散乱光強度が大きく変化するからでもあった。この大きく変化する領域をハッチングで示した。なお、計測開始から、注入が開始される20秒経過時点までは、各実線および点線がすべて重なるので、単に実線で示した。

#### 【0036】

そして、被検液中の特定成分の濃度を計測する場合は、あらかじめ作成された検量線を参照しつつ、コンピューター7が、この実線で示す試薬液混合後の光センサ5の出力信号を解析して、被検液の濃度を算出する。上記においては、同一容量の被検液に、同一容量の試薬液を同一時間で注入しているため、攪拌による均一化は同様に進行している。しかし、図10から明らかなように、出力信号が飽和に達するまで、すなわち安定するまでに要する時間が異なる。これは、タンパク質濃度により反応速度が異なるからである。

#### 【0037】

このような場合、従来は、出力信号が安定するまでに最も長い時間を要する被

検液を用いて濃度を算出していた。すなわち、被検液がタンパク質が出現しうる最低の濃度を有する場合に、出力信号が十分安定しているであろうと考えられる時点で、出力信号を計測し、この出力信号を用いて被検液の濃度を算出していた。このように設定すると、反応速度が大きく、短時間で計測が完了し得る場合でも、計測時間が大きくなるという問題がある。さらに、タンパク質濃度が高く反応速度が大きい場合、必要以上に長時間経過すると凝集したタンパク質が沈殿し始め、散乱光強度が変化することもあり、かえって精度が低下する場合もあった。また、反応速度は温度にも依存するため、一定温度で計測を行う必要があった。

## 【0038】

そこで、本実施の形態においては、光センサ12の出力信号に基づき、濃度を算出するだけでなく、さらには反応完了を判定する本発明の方法を以下に説明する。本実施の形態によれば、計測時間を必要十分に設定することができ、実質的計測の高速化だけでなく、温度制御を要さず、沈殿現象などによる精度悪化を防止することができる。上記のような場合に、十分な反応の完了（出力信号の安定）を、溶液の光学特性（光センサ12の出力信号）に基づき判定する。

まず、計測を実施する最長時間をあらかじめ設定しておく。これは、計測を開始してから、結果がでるまでの最長待機時間に相当し、この最長時間を超えた場合の計測は無効とする。このあらかじめ設定しておく時間を所定時間Tとする。

## 【0039】

この方法においては、所定時間T以内に、光センサ12の出力信号S1の単位時間当たりの変化量、すなわち微分信号 $dS1/dt$ が所定範囲R1内にある状態が連続して所定時間T1経過することで均一化したと判定する。

具体的に、計測開始後所定時間T（200秒）以内に $dS1/dt$  [V/S] が式（2）：

$$-1 \times 10^{-4} \leq dS1/dt \leq 1 \times 10^{-4} \quad (2)$$

で示される所定範囲R1にある状態が、連続して所定時間T1（10秒）以上経過した時点で均一化したと判定する。

## 【0040】

図11において、光センサ12の出力信号の微分信号を縦軸に示した。図11の●、■および×は、それぞれ図10の●、■および×に関する微分信号に相当する。図11においても、図10と同様に、試薬液の注入を開始する20秒経過時点から約2秒間以上の期間は、注入された試薬液の流束そのものが略平行光4の光路に侵入するので、散乱光強度が乱れ、光センサ12の出力信号の微分信号は激しく変化した。図11では、○は実質的にゼロに見えるため省略した。いない。図11の細部が確認しにくいいため、図12に、図11において縦軸のゼロ付近の部分を拡大し、横軸の60～200秒の部分を拡大したグラフを作成した。図11および12から、試薬液注入直後は、光センサ12の出力信号の微分信号は、●、■および×の順で大きかったが、約120秒経過以降では、これらの大小関係がすべて逆転し、×、■および●順で大きくなった。そして、●、■および×すべてゼロに漸近していった。

## 【0041】

ここで、図12より、上記した反応完了判定の条件として、計測開始以降所定時間 $T$ （200秒）以内に、光センサ12の出力信号の微分信号 $dS1/dt$ が式（2）で示した所定範囲 $R1$ 内にある状態が所定時間 $T1$ （10秒）以上継続した時点を以下のように見出した。

光センサ12の出力信号の微分信号 $dS1/dt$ が $1 \times 10^{-4}$  [V/S] 以下になるのは、●については77秒経過以降、■については135秒経過以降、×については166秒経過以降であった。これら以降は、●、■および×はゼロに漸近して行くため、微分信号は式（2）で示した所定範囲 $R1$ 内にあった。

したがって、図12において微分信号 $dS/dt$ が式（2）で示した所定範囲 $R1$ 内に入った時点から10秒経過した時点が、計測開始から所定時間 $T$ （200秒）以内であれば、200秒経過した時点で反応が完了したと判定できた。具体的には、●については、87秒経過時点で反応が完了したと判定でき、■については、145秒経過時点で反応が完了したと判定できた。また、×については、176秒経過時点で反応が完了したと判定できた。上記に示した例の判定条件を用いることで、反応が完了したかどうかを的確に判定できた。

## 【0042】

ここで、光センサ12の出力信号より被検液の濁度を計測し、タンパク質濃度を算出する場合は、上記のように、反応が完了したと判定された時点の光センサ12の出力信号を解析すればよい。すなわち、●については87秒経過時点の光センサ12の出力信号、■については145秒経過時点の光センサ12の出力信号、×については176秒経過時点の光センサ12の出力信号を用いる。なお、検量線を作成する場合も、上記と同様の条件で作成してもよい。

図16に光センサ12の出力信号のタンパク質濃度依存性を示す。実線は200秒経過時点の出力信号で、+は90秒経過時点の出力信号である。▲は、上記の条件で反応完了が判定された時点、すなわち10mg/dlに対しては176秒経過時点の出力信号、30mg/dlに対しては145秒経過時点の出力信号、100mg/dlに対しては87秒経過時点の出力信号である。図16からわかるように、▲で示される反応完了判定なされた場合は、各濃度に対しても精度を維持しているが、+で示した90秒経過時点の出力信号では、低濃度になるほど精度が低下する。

#### 【0043】

上記したように、本実施の形態により、精度を確保しつつ必要十分な計測時間で濃度を計測することができ、計測時間を短縮することができる。さらに、反応が十分に完了していないことによる精度悪化も回避することができる。

反応完了の判定条件は、上記条件に限定されるものではないことは言うまでもない。すなわち、T、T1、および式(2)で示される所定範囲R1は、試薬液の種類、注入速度、光学系の配置、要求される精度、計測時間および検量線などの各種条件に応じて、適宜設定することができる。また、被検液の特定成分濃度を算出する場合は、コンピューター7が、反応完了が判定された時点の光センサ12の出力信号を、あらかじめ設定された検量線を参照して、被検液の濃度を算出する。なお、検量線を作成する場合も、上記と同様の条件で作成してもよい。また、濃度既知の各標準溶液に対して、図10に相当する出力信号の経時変化特性全体を把握した上で、反応が完了した時点での出力信号を使用して作成してもよい。

#### 【0044】

以上のように、本実施の形態によれば、反応完了度合いを、サンプルセルを光学系に設置したまま判定することができる。さらに、計測に要する時間が必要十分なため、時間を節約することができる。これにより、工程を簡略化するとともに誤動作が発生しにくくなり、その実用的効果は極めて大きく、計測および検査の効率化および高精度化が可能である。

なお、本実施の形態では、溶液中を略平行光4が伝搬する際に発生した散乱光を光センサ12で検出して濁度を計測する例を示したが、濁度を透過光強度（光センサ5の出力信号）として計測する場合も同様に動作させることができ、同様に高精度な計測を実現できる。

#### 【0045】

ただし、この場合、タンパク質濃度が高いほど、濁度が高いため、光センサ5の出力信号は小さくなる。また、光センサ5の出力信号の微分信号  $dS1/dt$  は、マイナスからゼロに漸近した。このように、透過光強度を用いて反応完了を判定する場合も、 $T$ 、 $T1$  および式(2)で示される所定範囲  $R1$  は、試薬溶液の種類、注入速度、光学系の配置、要求される精度、計測時間および検量線などの各種条件に応じて、適宜設定すればよい。

また、出力信号の微分信号を得る場合は、アナログ回路で生成してもよいし、適当な時間間隔で複数回計測して差分演算で生成してもよい。以上では、出力信号が単調減少または単調増加する場合を示したが、振動減少または振動増加する場合でも、同様に本発明に係る方法を用いることができる。

#### 【0046】

##### 実施の形態3

本実施の形態においては、上記実施の形態2で用いた図8および9に示した構成を有する装置を用いて、異なる反応完了の判定方法を説明する。実施の形態2と同様に、図10および16に示した光センサ12の出力信号を濃度算出および判定に利用した。しかし、本実施の形態では、上記実施の形態2とは異なり、所定範囲  $R2$  にあるかどうかを評価する指標として  $(dS1/dt)/S1$  を用いた。

上記実施の形態2では、 $dS1/dt$  を評価指標としていたが、これによれば

S1 が相対的に小さい場合、すなわち被検液の濃度が低い領域にある場合、 $dS1/dt$  そのものが小さくなる。このため、低濃度被検液の場合、反応完了度合いが低くても、反応完了と判定してしまうことがあった。したがって、本実施の形態では、 $dS1/dt$  を出力信号 S1 で除した値、すなわち  $(dS1/dt)/S1$  を評価指標として、反応完了を判定する。

## 【0047】

まず、計測を実施する最長時間をあらかじめ設定しておく。これは、計測を開始してから、結果がでるまでの最長待機時間に相当し、この最長時間を超えた場合の計測を無効とする。このあらかじめ設定しておく時間を所定時間 T とする。

この方法においては、所定時間 T 以内に、光センサ 12 の出力信号 S1 の単位時間当たりの変化量を出力信号 S1 で除した値、すなわち  $(dS1/dt)/S1$  が所定範囲 R2 内にある状態が連続して所定時間 T2 経過することで均一化したと判定する。

具体的に、計測開始後所定時間 T (200 秒) 以内に、 $(dS1/dt)/S1$  [V/S] が式 (3) :

$$-5 \times 10^{-4} \leq (dS1/dt)/S1 \leq 5 \times 10^{-4} \quad (3)$$

に示した所定範囲 R2 である状態が、連続して所定時間 T2 (10 秒) 以上経過した時点で、混合液が均一化したと判定する。

## 【0048】

図 13 の縦軸に光センサ 12 の出力信号の微分信号を出力信号で除した値を示した。図 13 の、●、■および×は、それぞれ図 10 の●、■および×に対する微分信号を出力信号で除した値に相当する。図 13 においても、図 10 と同様に、試薬溶液の注入を開始する 20 秒経過時点から 2 秒以上の期間は、注入された試薬溶液の流束そのものが略平行光 4 の光路に侵入するので、散乱光強度が乱れた。そのため、 $(dS1/dt)/S1$  は激しく変化した。なお、図 13 では、○は実質的にゼロに見えるため省略した。図 13 では、細部が確認しづらいので、縦軸を 0 付近で、横軸は 60 ~ 200 秒付近で拡大して図 14 を得た。図 13 および 14 より、試薬液注入直後は、光センサ 12 の出力信号の微分信号は、×、■および●の順で大きく、これらはすべてゼロに漸近していった。



## 【0049】

ここで、図14より、上記した反応完了判定の条件として、計測開始以降所定時間T（200秒）以内に、 $(dS_1/dt)/S_1$ が式（3）で示した所定範囲R2内にある状態が所定時間T（10秒）以上継続した時間を以下のように見出した。

$(dS_1/dt)/S_1$ が、 $5 \times 10^{-4} [V/S]$  以下になるのは、●については69秒経過以降、■については148秒経過以降であった。しかし、×については200秒が経過しても、 $(dS_1/dt)/S_1$ が、 $5 \times 10^{-4} [V/S]$  以下にならなかった。200秒以降は、●および■はゼロに漸近して行き、式（3）で示した所定範囲内であった。したがって、式（2）で示した所定範囲内に入った時点から10秒経過時点が、計測開始から所定時間T（200秒）以内の時点であれば、200秒の時点で反応が完了したと判定できた。

## 【0050】

具体的には、●については79秒時点で反応が完了したと判定でき、■については158秒時点で反応が完了したと判定できた。しかし、×は反応が完了したと判定できず、本計測は無効とした。これにより、図16から明らかなように、タンパク質濃度が10mg/dlの時は精度が低い、このような計測を無効とすることができた。上記実施の形態2では、このような低濃度域において精度が悪い際にも、反応が完了したと判定し、計測を有効としてしまうことから、計測の信頼性が低くなることがあった。しかし、本実施の形態の場合、このような計測を無効とすることで、信頼性を確保することができた。

## 【0051】

上記したように、本実施の形態によれば、精度を確保しつつ必要十分な計測時間で濃度を計測することができ、計測時間を短縮することができる。さらに、低濃度域被検液に対して起こりうる、相対的反応の完了度合いの不十分さからくる精度悪化を検出することができ、信頼性を向上させることができる。

反応完了の判定条件は、上記条件に限定されるものではないことは言うまでもない。すなわち、T、T2、および式（3）で示される所定範囲R2は、試薬液の種類、注入速度、光学系の配置、要求される精度、計測時間および検量線などの

各種条件に応じて、適宜設定すればよい。

#### 【0052】

##### 実施の形態4

本実施の形態においては、上記実施の形態3で用いた図8および9に示した構成と同じ構成を有する装置を用いるが、反応完了の判定方法が異なる。上記実施の形態3と同様に、図10および16に示した光センサ12の出力信号を濃度算出および判定に利用するが、本実施の形態では、実施の形態3とは異なり、試薬液を注入する前の光センサ12の出力信号S0も利用する。また、S0の値をわかり易くするために、図15に、図12の縦軸を対数で表したグラフを示した。

具体的には、実施の形態2および3で用いたS1の代わりに、 $S1 - S0$ を評価指標として用いる。すなわち  $(d(S1 - S0)/dt) / (S1 - S0)$  を指標として用いる。ただし、S0は時間依存性がないとして評価するため、 $d(S1 - S0)/dt = dS1/dt$  が成り立ち、 $(dS1/dt) / (S1 - S0)$  が所定範囲R3にあるかどうかを評価する。

#### 【0053】

したがって、ここでは、所定時間T以内に、 $(dS1/dt) / (S1 - S0)$  が所定範囲R3内にある状態が所定時間T3経過した時点で、均一化および/または及び反応完了を判定する。

上記以外は実施の形態3と同様な方法である。これによって、試薬液が注入されるまでの被検液の濁度に影響されることなく、実施の形態3で述べた低濃度の被検溶液を用いた場合の相対的な精度の悪化を検出することができる。

上記したように、本実施の形態により、低濃度域被検液に対して起こりうる、相対的反応の完了度合いの不十分さからくる精度悪化を、被検液そのものの濁度に影響されることなく検出でき、さらに信頼性を向上することができる。

#### 【0054】

##### 実施の形態5

本発明の実施の形態5について、図17を用いて以下に詳細に説明する。図17において、符号1～12で示される構成要素は、図8において符号1～12で示される構成要素と同じで同様に動作する。注入口13は、注入口2と同様にサ

ンプルセル 1 の光学窓がない側面に配置されており、内径（直径）が 0. 1 c m である。ポンプ 1 4 は試薬液を注入口 1 3 より、サンプルセル 1 中の被検液に注入する。また、矢印 1 5 は、試薬液が注入口 1 3 より注入される注入方向を示す。本実施の形態においては、複数種類の試薬液などを注入する。例えば、サンプルセル 1 中の被検液に、まず緩衝液を注入し、つぎに抗体試薬液などを注入する。

本実施の形態においては、第 1 試薬液である緩衝液を注入した後、本第 1 試薬液と被検液が均一化されと判定された後、混合液の光学特性を計測し、そしてつぎに第 2 試薬液である抗体試薬液を注入して、反応が完了した後、混合液の光学特性を計測し、濃度を算出する。ここで、本実施の形態 1 ～ 4 で述べた方法で、均一化されたと判定され、かつ反応が完了したと判定する方法を、図 1 8 を用いて説明する。

#### 【 0 0 5 5 】

まず、被検液をサンプルセル 1 に導入し、この時点より光センサ 1 2 で散乱光強度の計測を開始する（0 秒経過時点）。2 0 秒経過した時点で第 1 試薬溶液（R 1）である緩衝液を 2 秒間で注入した。そして、前述したいずれかの実施の形態で述べた方法を用いて、第 1 試薬液と被検液が均一化されたと判定する。均一化判定がなされた時点で、混合液の光学特性を計測し、そして均一化判定がなされた時点より所定時間 T 4 が経過した時点で、第 2 試薬液である抗体試薬液を 2 秒間で注入する。言い換えると、均一化判定がなされた時点から所定時間 T 4 が経過するまでの期間に、混合液の光学特性を計測し出力信号 S 0 を得る。そして、前述したいずれかの実施の形態で述べた方法を用いて、第 2 試薬液に関する反応完了を判定した後、混合液の光学特性を計測し、出力信号 S 1 を得る。ここで、得られた S 0、S 1 に基づき濃度を算出する。

#### 【 0 0 5 6 】

3 種類以上の試薬液を用いる場合も、同様に各試薬液を注入し均一化または反応完了が判定された時点より所定時間経過後に、つぎの試薬液を注入する。そして、各段階で、均一化または反応完了が判定された時点以降、かつつぎの試薬液を注入する前に、必要ならば光学特性を計測し、その計測値に基づき濃度を算出

する。

上記したように、本実施の形態により、各試薬液を注入した後に、均一化および／または反応完了を判定した後に、光学特性を計測し、そしてつぎの試薬液を注入するので、各試薬液の影響を区別して計測できるため、信頼性が高い。例えば、被検液中の特定抗原濃度計測するときには、あらかじめ被検液と緩衝液を混合した後に、抗体試薬液を混合して濁度を計測する場合がある。この際、被検液そのものが有する濁度および被検液と緩衝液を混合して新たに生成した濁度と、特異結合反応である当該抗原と抗体の結合により生成した濁度を区別して計測することができる。これにより、特定抗原のみを特異的に検出でき、計測の信頼性を確保できる。なお、所定時間T4はゼロ以上で、この間に光学特性を計測できる時間であればよい。

【0057】

#### 【発明の効果】

以上のように、本発明によれば、均一化や反応完了までに必要な時間のみですむ。すなわち、計測時間においては必要条件のみを満足させればよく、計測時間を短縮できるその実用的効果は大きく、計測および検査の効率化と省力化が可能になる。さらに、精度が低い計測を無効とすることができるため、信頼性が高い。また、被検液中の特定成分のみを特異的に検出して濃度を計測でき、その実用的効果は極めて大きい。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

本発明の実施の形態1に係る溶液濃度計測装置の上面図である。

##### 【図2】

本発明の実施の形態1に係る溶液濃度計測装置の一部を断面にした側面図である。

##### 【図3】

本発明の実施の形態3における光センサ5の出力信号の時間変化を示すグラフである。

##### 【図4】

本発明の実施の形態 1 における光センサ 5 の出力信号の微分信号の時間変化率を示すグラフである。

【図 5】

図 4 において、縦軸を 0 付近で拡大して得られたグラフである。

【図 6】

図 4 において、縦軸のゼロ以上の部分を拡大し、横軸の 14.5 ～ 16.5 秒付近の部分を拡大して得られたグラフである。

【図 7】

図 4 において、縦軸のゼロ付近を拡大し、横軸の 17 ～ 20 秒付近の部分を拡大して得られたグラフである。

【図 8】

本発明の実施の形態 2 に係る溶液濃度計測装置の上面図である。

【図 9】

本発明の実施の形態 2 に係る溶液濃度計測装置の一部を断面にした側面図である。

【図 10】

本発明の実施の形態 2 における光センサ 12 の出力信号の時間変化を示すグラフである。

【図 11】

本発明の実施の形態 2 における光センサ 12 の出力信号の微分信号の時間変化率を示すグラフである。

【図 12】

図 11 において、縦軸のゼロ付近の部分を拡大し、横軸の 60 ～ 200 秒付近の部分を拡大して得られたグラフである。

【図 13】

本発明の実施の形態 3 における光センサ 12 の出力信号の微分信号を出力信号で除した値を示すグラフである。

【図 14】

図 13 において、縦軸のゼロ付近の部分を拡大し、横軸の 60 ～ 200 秒付近

の部分拡大して得られたグラフである。

【図 1 5】

図 1 2 の縦軸を対数で表したグラフである。

【図 1 6】

本発明の実施の形態 2 ～ 3 において用いた光センサ 1 2 の出力信号のタンパク質濃度依存性を示すグラフである。

【図 1 7】

本発明の実施の形態 5 に係る溶液濃度計測装置の上面図である。

【図 1 8】

本発明の実施の形態 5 における光センサ 1 2 の出力信号の時間変化を示すグラフである。

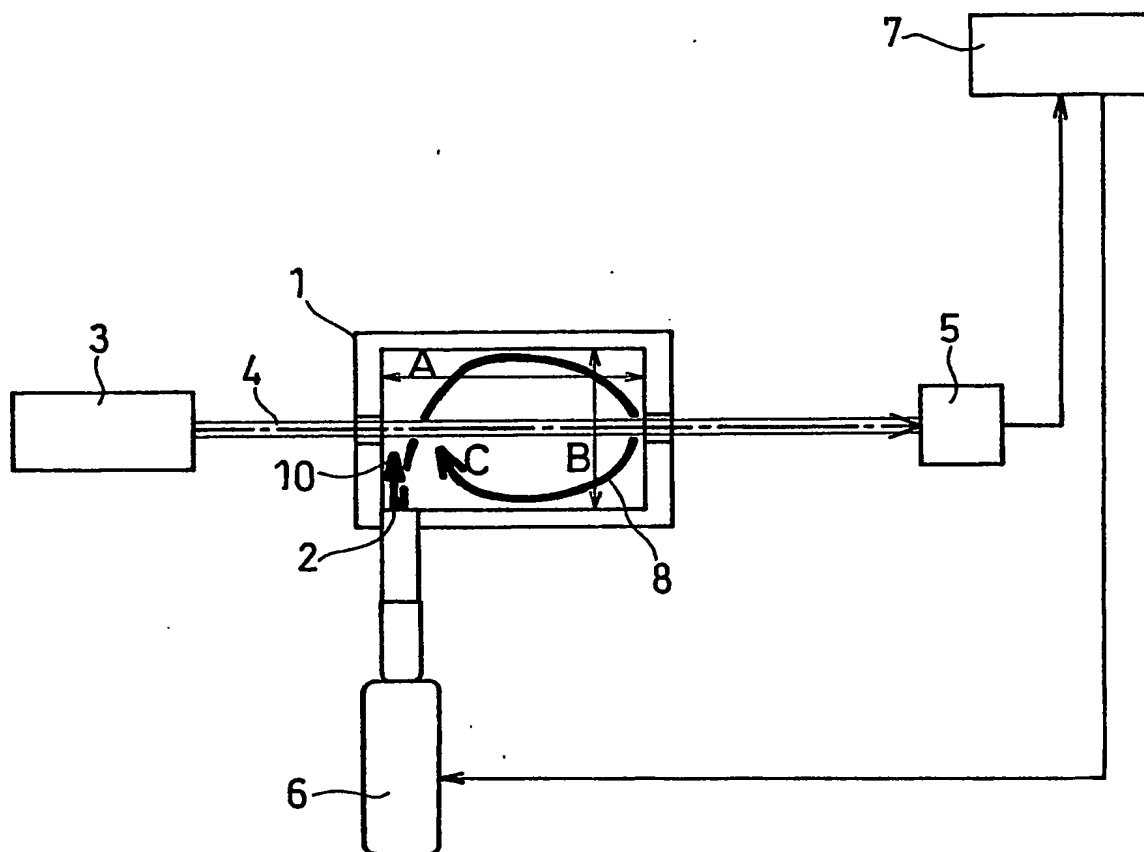
【符号の説明】

- 1 サンプルセル
- 2 注入口
- 3 半導体レーザモジュール
- 4 略平行光
- 5 光センサ
- 6 ポンプ
- 7 コンピューター
- 9 液面
- 1 0 注入方向

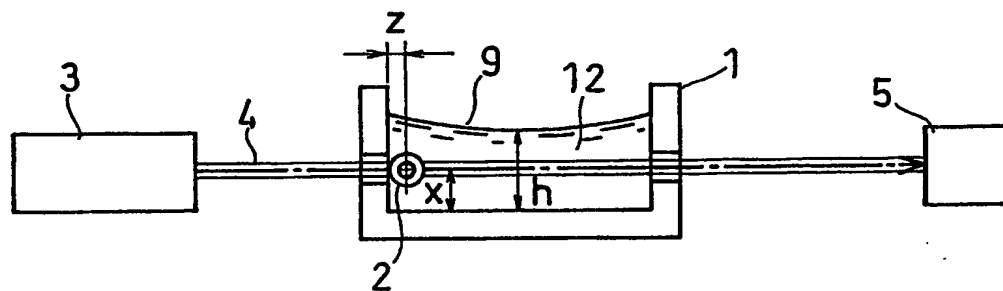
【書類名】

図面

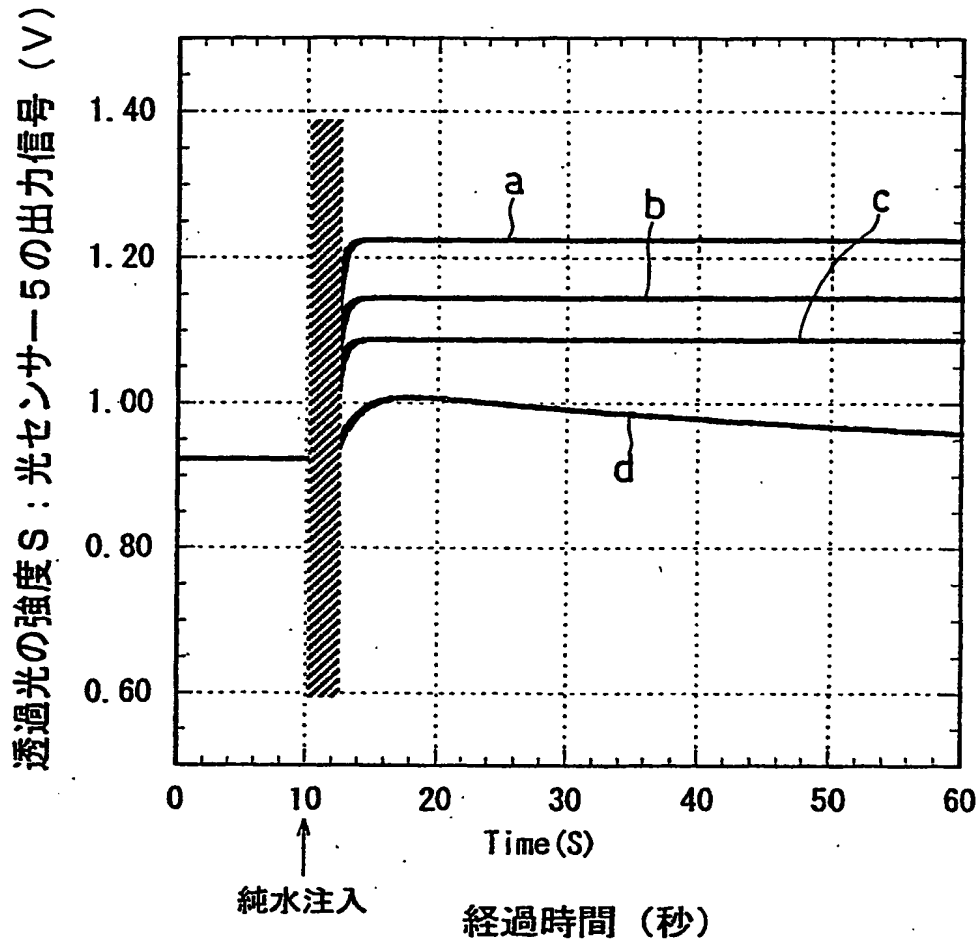
【図 1】



【図 2】



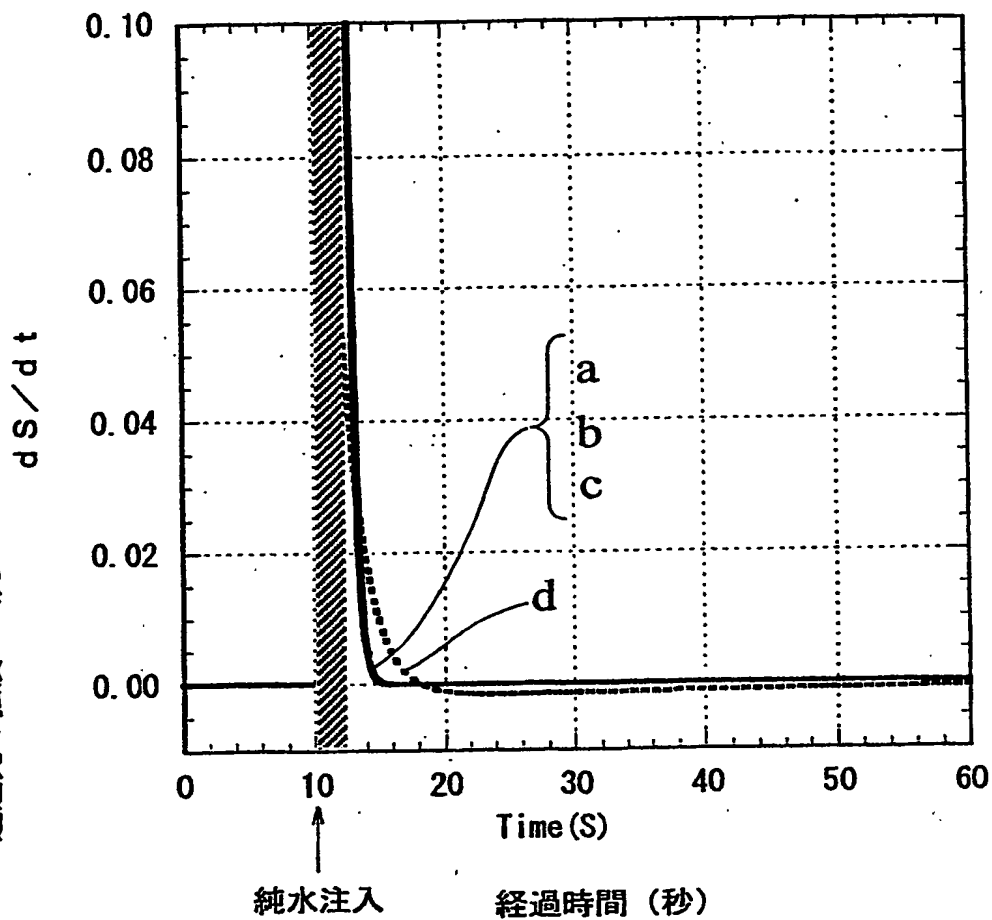
【図3】





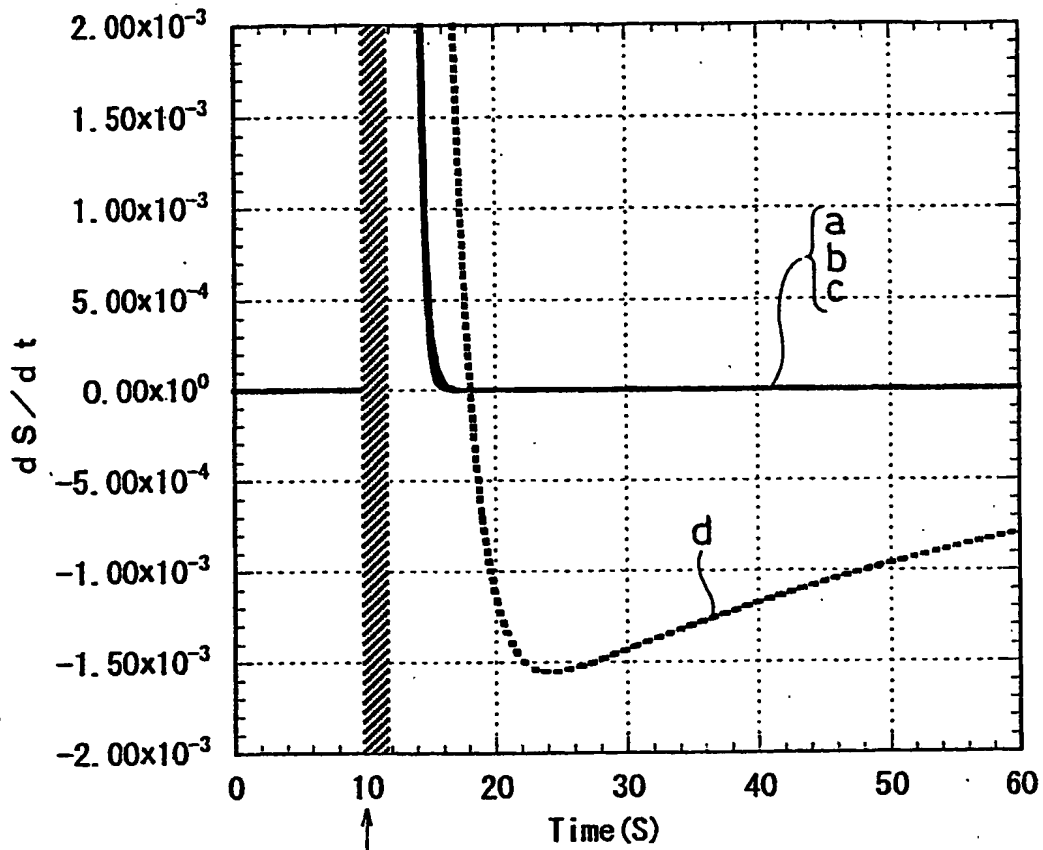
【図 4】

透過光の強度  $S$  (光センサー5の出力信号 (V)) の時間変化率



【図 5】

透過光の強度  $S$  (光センサー 5 の出力信号 (V)) の時間変化率

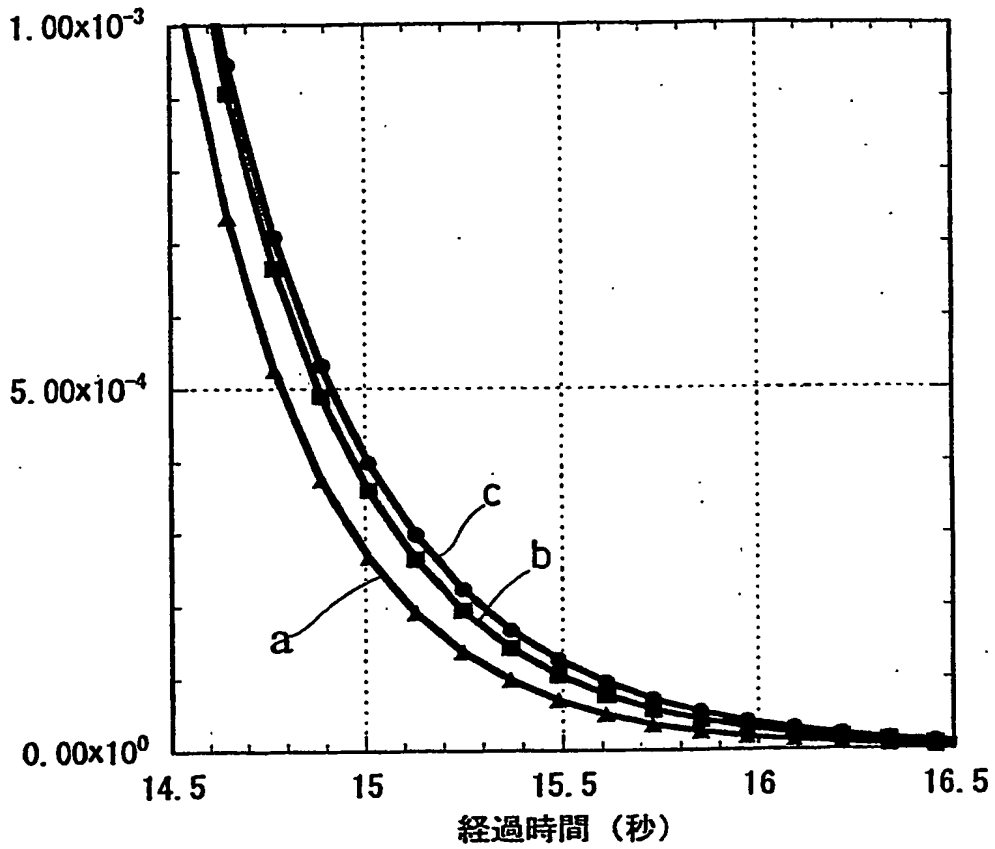


純水注入

経過時間 (秒)

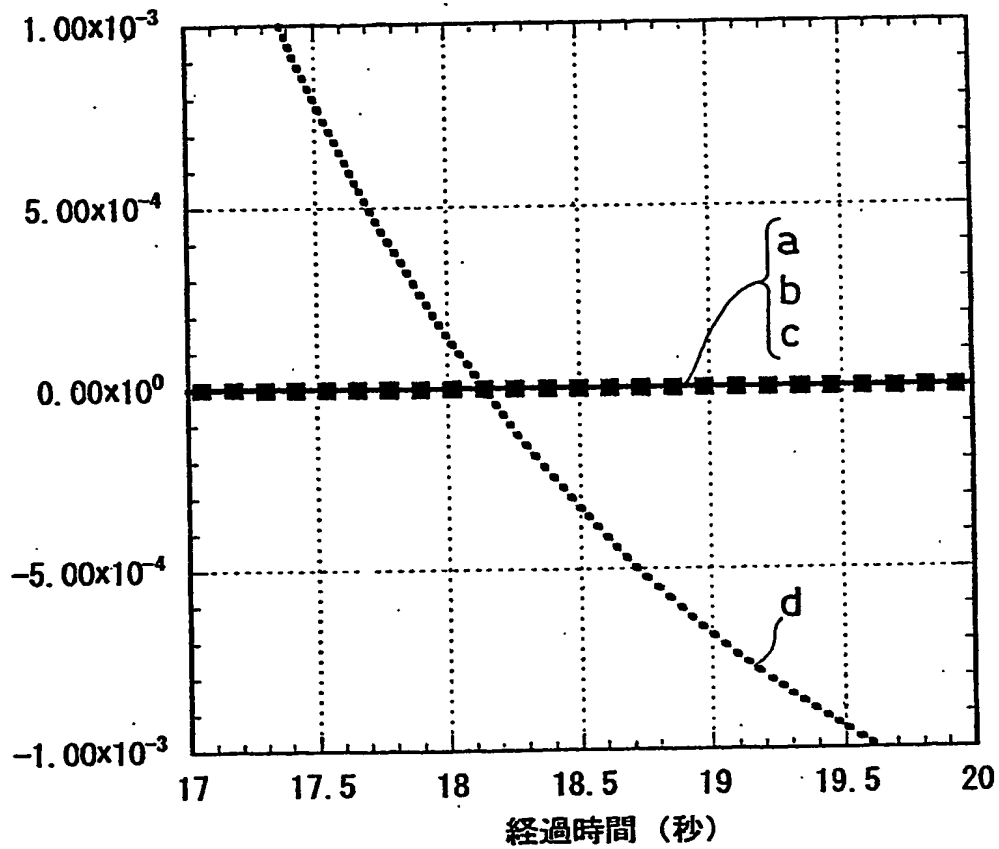
【図 6】

透過光の強度  $S$  (光センサー-5 の出力信号 (V) ) の時間変化率  
 $dS/dt$  [V/S]

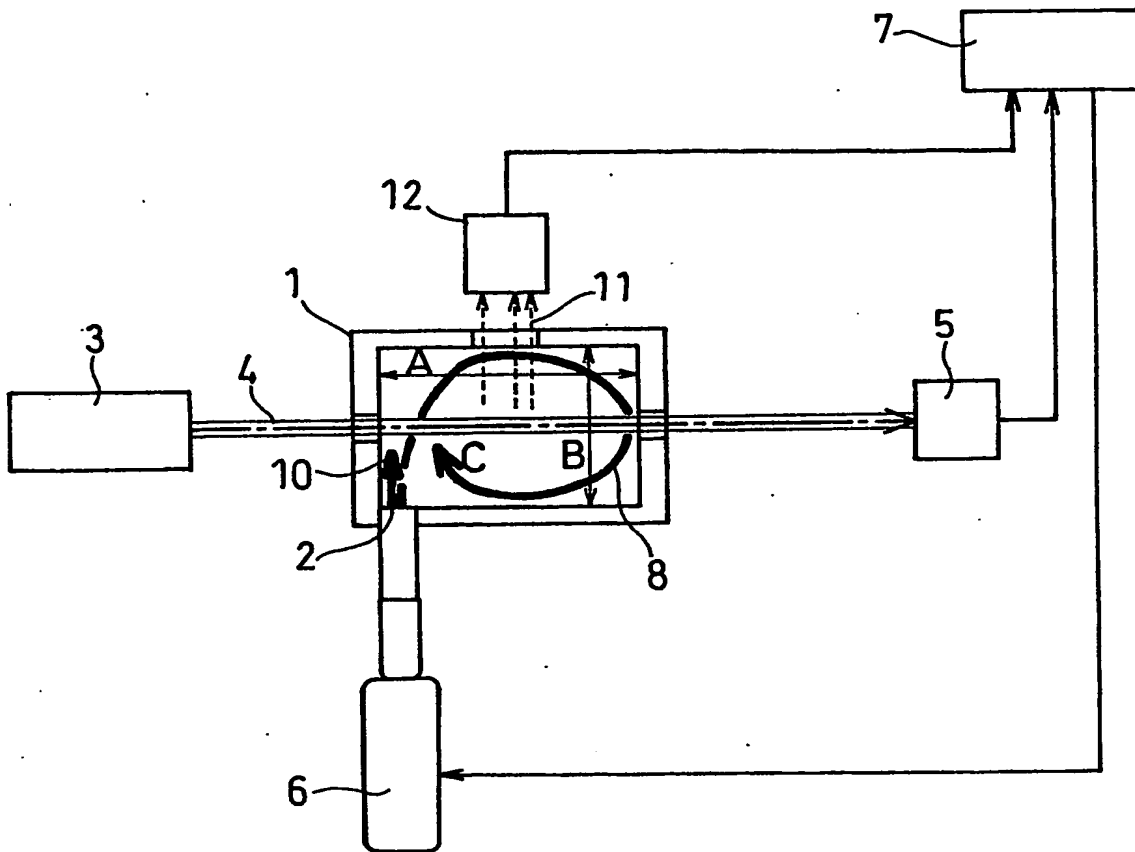


【図 7】

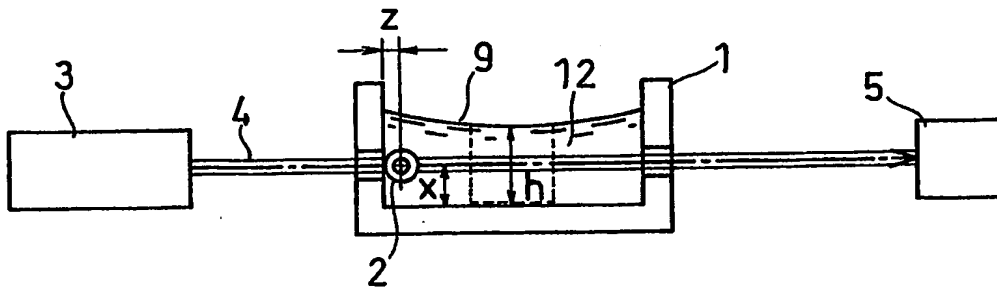
透過光の強度  $S$  (光センサー 5 の出力信号 (V) ) の時間変化率  
 $dS/dt$



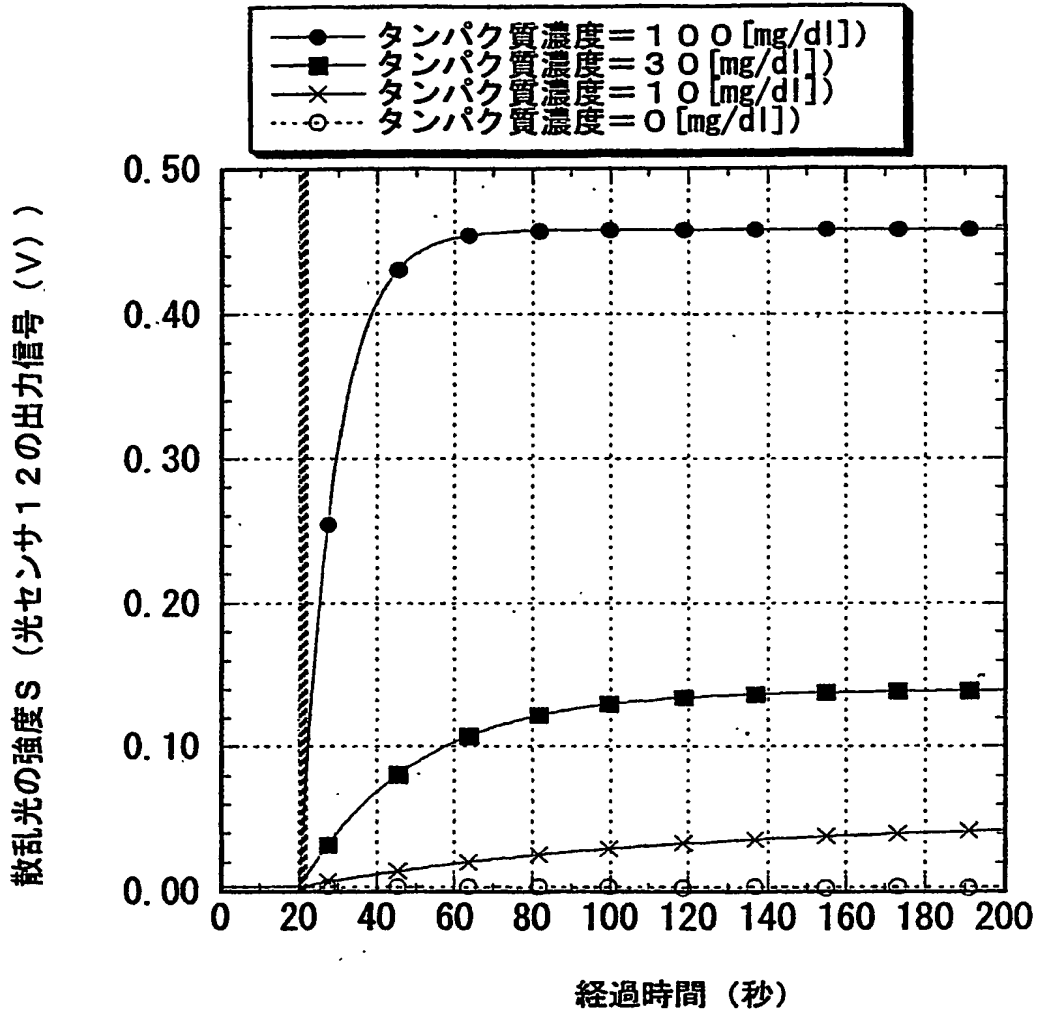
【図8】



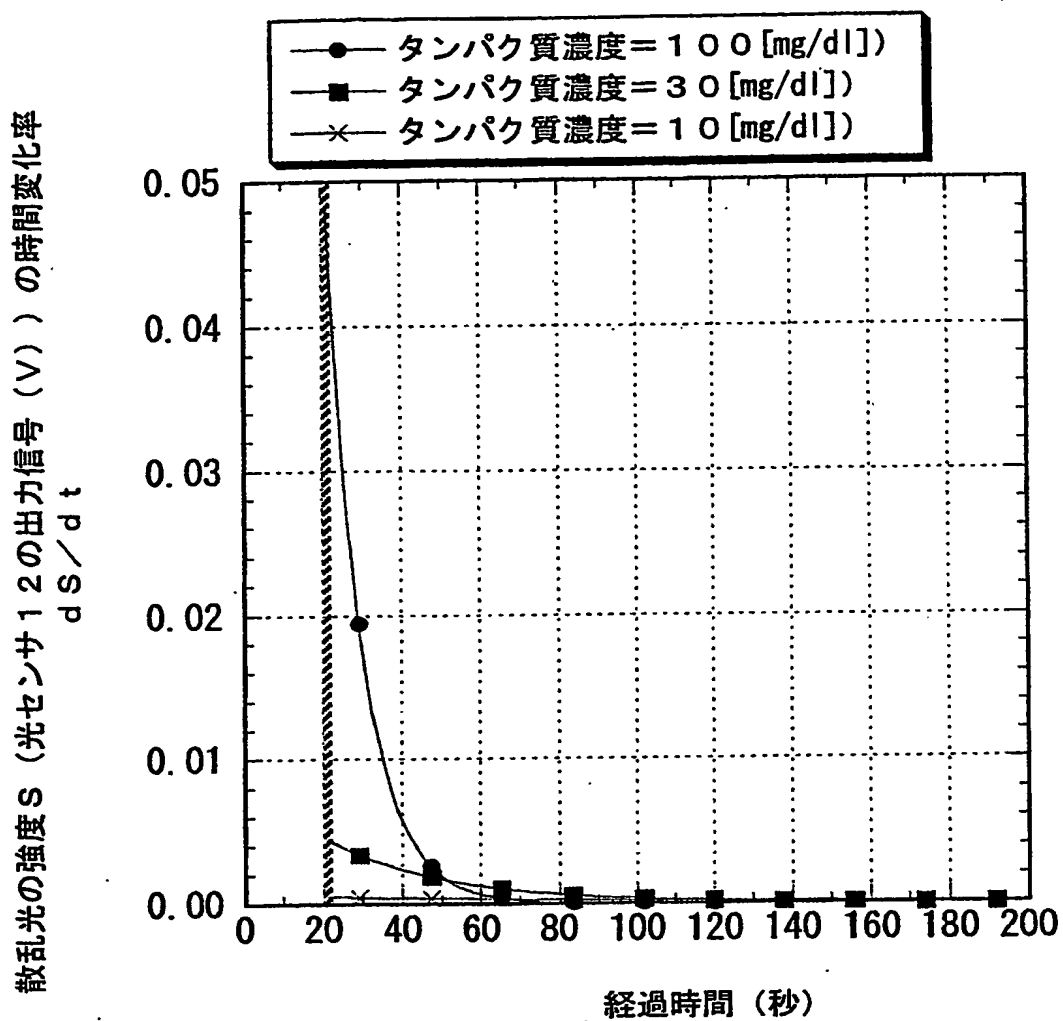
【図9】



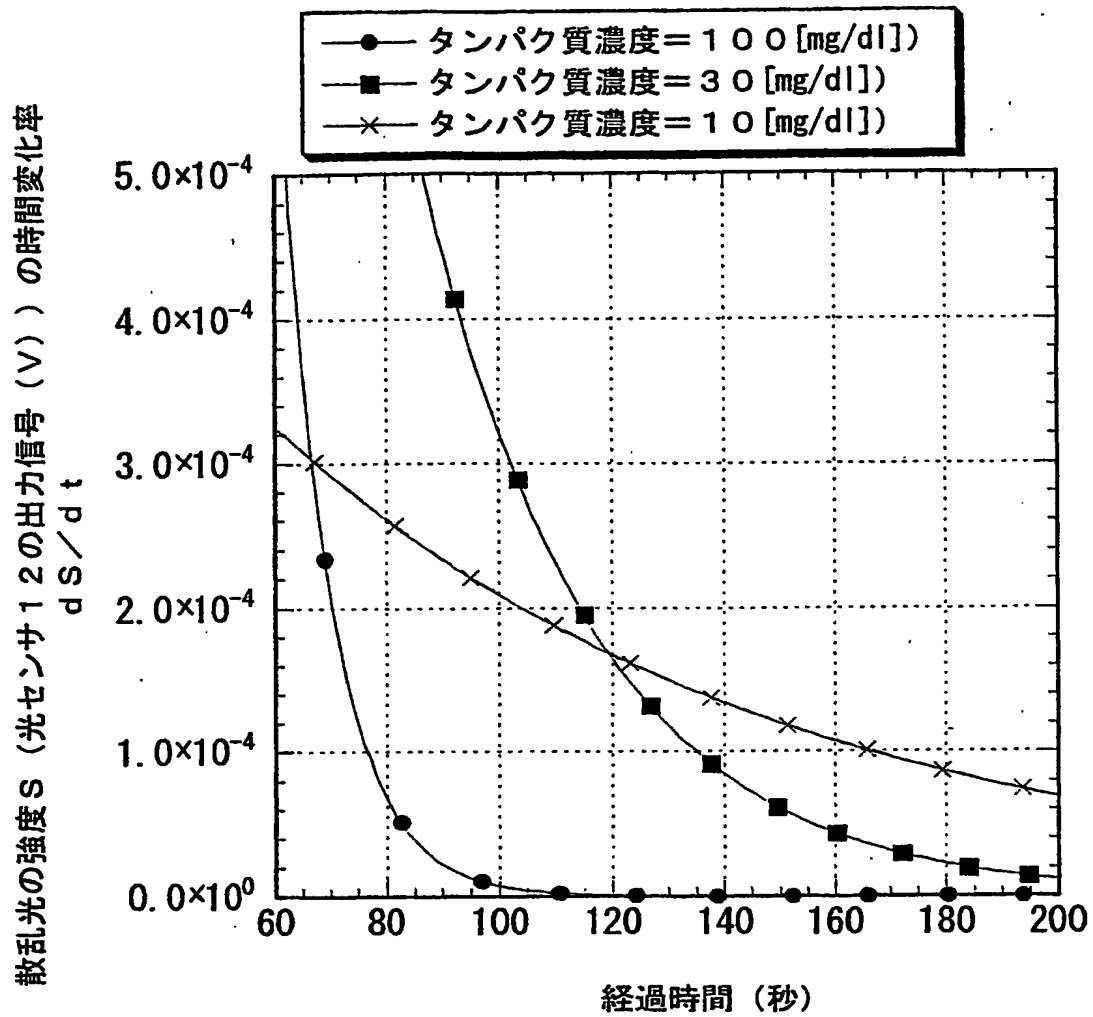
【図 10】



【図11】



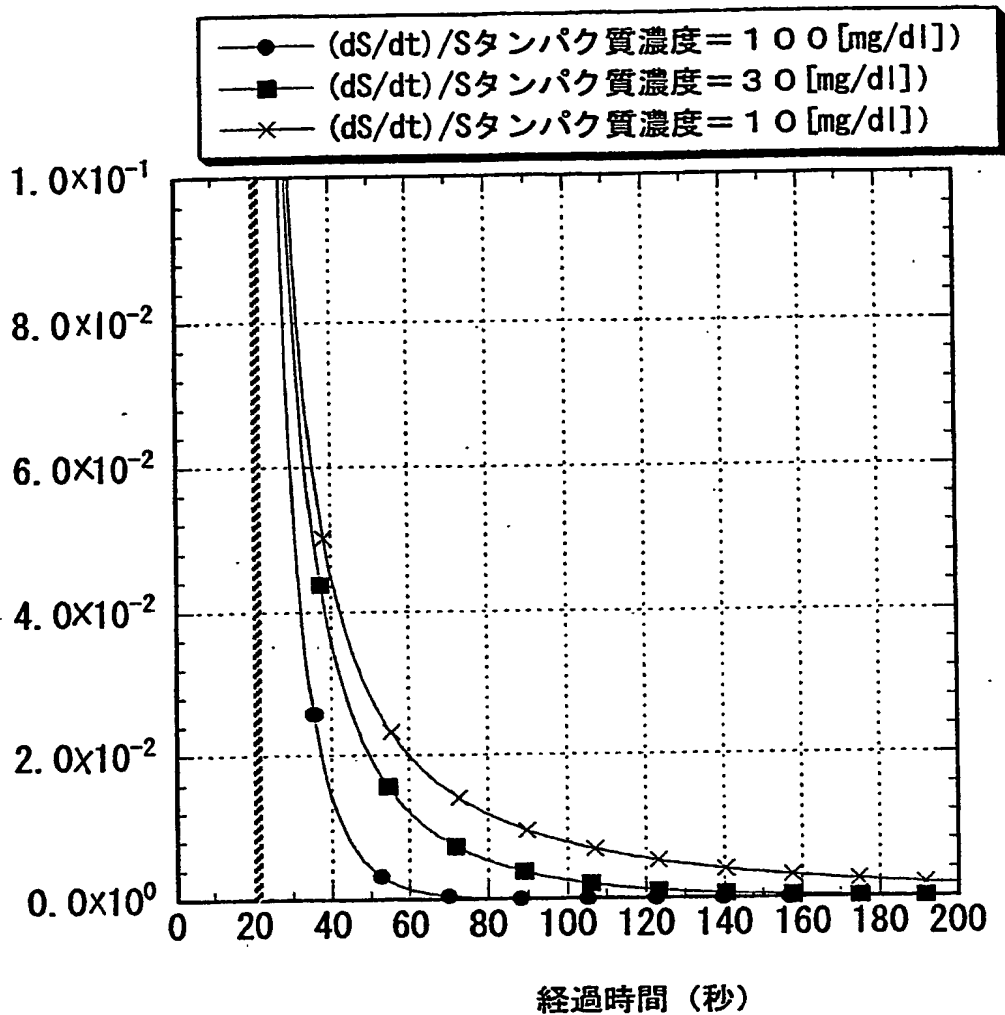
【図 12】





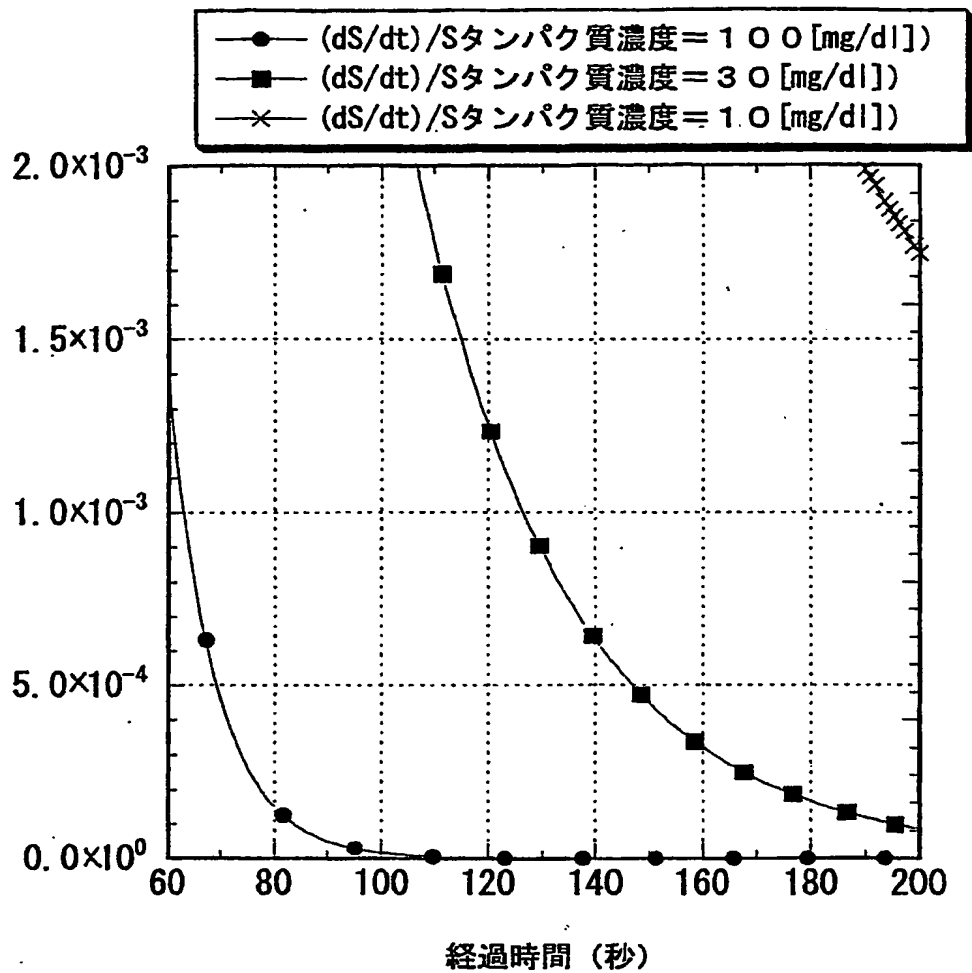
【図 13】

散乱光の強度  $S$  (光センサ 12 の出力信号 (V)) の時間変化率と  $S$  との比  
 $(dS/dt) / S$

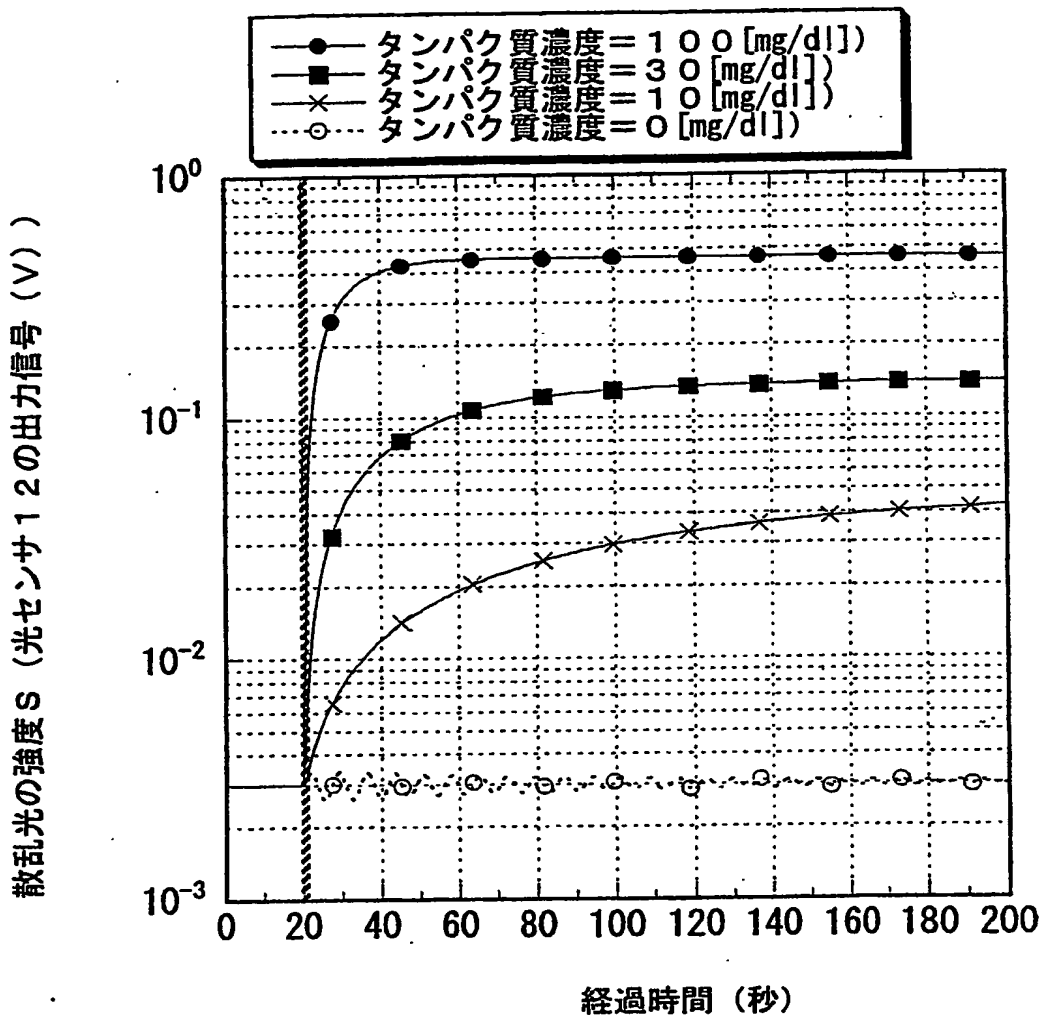


【図 14】

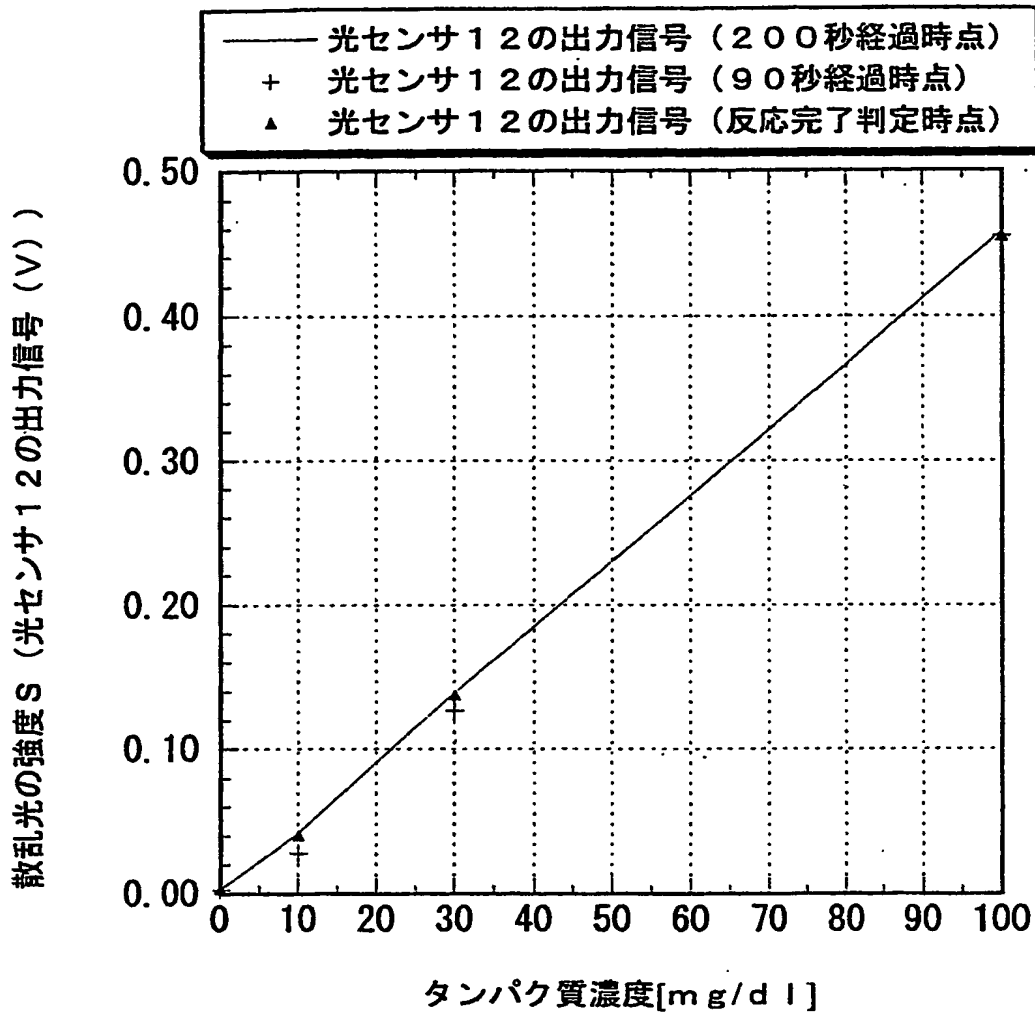
散乱光の強度  $S$  (光センサ 12 の出力信号 (V) ) の時間変化率と  $S$  との比  
 $(dS/dt)/S$



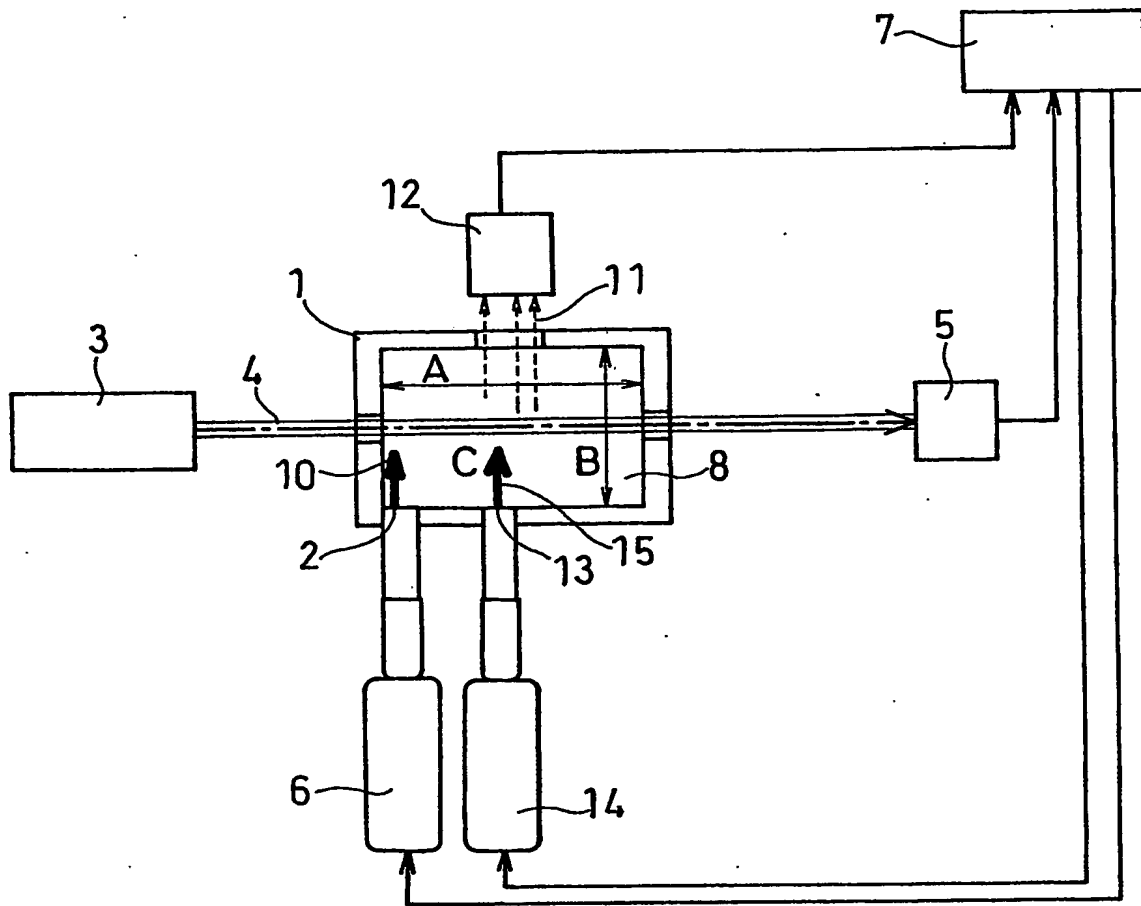
【図 15】



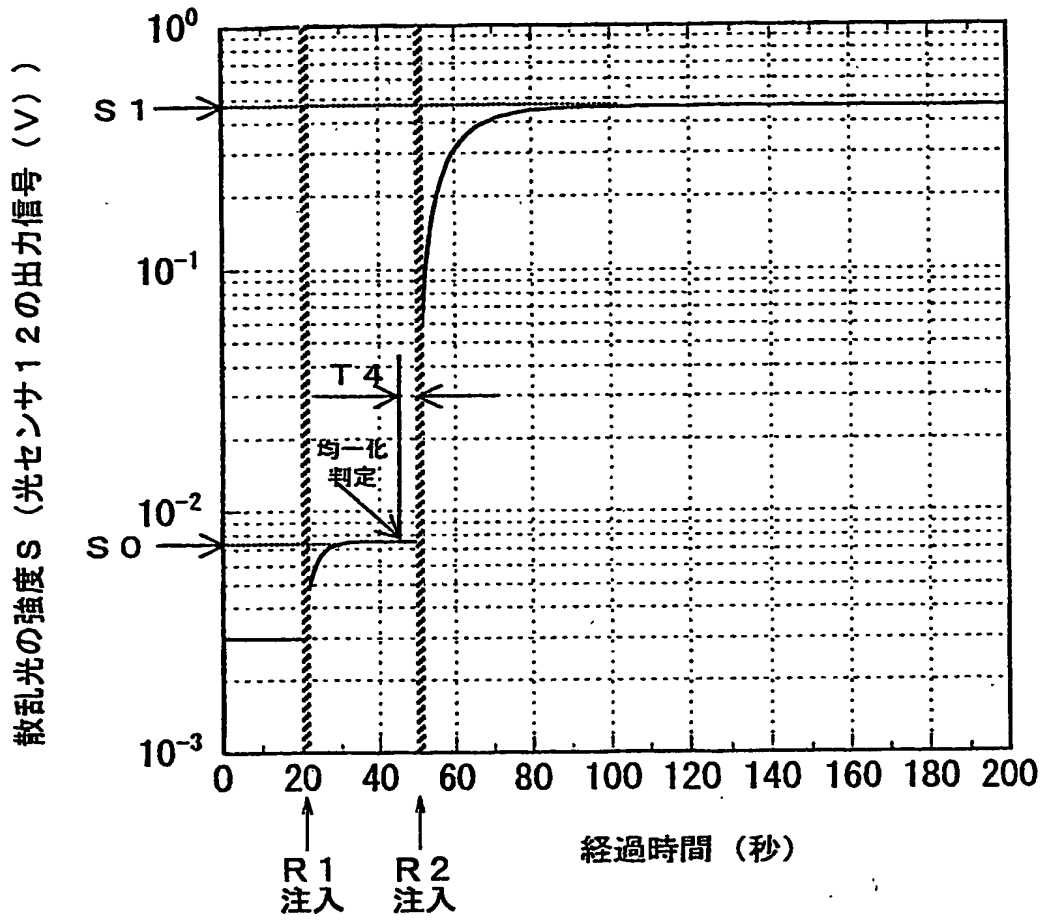
【図 16】



【図17】



【図 18】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 計測時間を必要十分なものとし、計測を高速化し得る均一化・反応完了判定方法、およびこれを用いた溶液濃度計測方法を目的とする。

【解決手段】 均一化・反応完了判定方法、およびこれを用いた溶液濃度計測方法において、被検液と試薬液との混合液の光学特性に基づき、均一化と反応完了を判定する。

【選択図】 図1

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-068832
受付番号	50200352424
書類名	特許願
担当官	第一担当上席 0090
作成日	平成14年 3月14日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成14年 3月13日
-------	-------------



出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000005821]

1. 変更年月日	1990年 8月28日
[変更理由]	新規登録
住 所	大阪府門真市大字門真1006番地
氏 名	松下電器産業株式会社